

تأثیر پلی مورفیسم I405V ژن پروتئین انتقال دهنده کلسترول استر (CETP) بر سطح لیپوپروتئین با دانسیته بالا (HDL) در پاسخ به درمان با استاتین ها

دکتر کیهان قطره سامانی^۱، عفت فرخی^{۲*}، دکتر مرتضی هاشم زاده چالشتی^۳، مرتضی نیکوکار^۳، زهرا

نورمحمدیان^۳

^۱ مرکز تحقیقات بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ ^۲ مرکز تحقیقات سلولی، مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد،

شهرکرد، ایران؛ ^۳ گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۰/۱/۲۹ اصلاح نهایی: ۹۰/۴/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۰/۹/۱۶

چکیده:

زمینه و هدف: پروتئین انتقال دهنده کلسترول استر (CETP) در متابولیسم لیپوپروتئین با دانسیته بالا (HDL) و مسیر انتقال معکوس کلسترول نقش اساسی دارد. چند شکلی های ژن CETP مانند I405V (ایزولوسین به والین) که مستقیماً بر HDL کلسترول تأثیر می گذارد رونویسی از این ژن را تحت تأثیر قرار می دهد. هدف این مطالعه تعیین تأثیر پلی مورفیسم I405V ژن CETP بر سطح HDL کلسترول در پاسخ به درمان با استاتین ها می باشد. روش بررسی: در این مطالعه توصیفی - تحلیلی از بین بیمارانی که سطح لیپوپروتئین با دانسیته پایین کلسترول (LDL-C) بالاتر از ۱۲۰ میلی گرم در دسی لیتر تحت درمان، ۱۹۶ بیمار دریافت کننده لوآستاتین و آتوراستاتین انتخاب شدند. در همه بیماران قبل و بعد از درمان پروفایل لیپیدی اندازه گیری شد. پلی مورفیسم I405V ژن CETP توسط تکنیک چند شکلی طول قطعه محدود (PCR- RFLP) تعیین گردید. سپس نتایج آزمایشات بیوشیمیایی در پلی مورفیسم های مختلف با استفاده از آزمون های t زوجی، ANOVA و توکی مورد مطالعه قرار گرفت.

یافته ها: پس از درمان با لوآستاتین در ژنوتیپ VV سطح کلسترول کاهش بیشتر و سطح HDL افزایش بیشتری نسبت به دو ژنوتیپ دیگر نشان داد ($P < 0.05$). در حالی که غلظت آپولیپوپروتئین A1 (ApoA1) در مصرف کنندگان آتورواستاتین در ژنوتیپ II نسبت به دو ژنوتیپ دیگر افزایش بیشتر ($P < 0.01$) و در مصرف کنندگان لوآستاتین علاوه بر ژنوتیپ II، در ژنوتیپ IV نیز غلظت آپولیپوپروتئین A1 (ApoA1) علی رغم پایین تر بودن HDL افزایش بیشتری داشت.

نتیجه گیری: لوآستاتین و آتورواستاتین در ژنوتیپ II، پروتئین آپولیپوپروتئین A1 را در ذرات HDL بیش از دو ژنوتیپ دیگر افزایش داده است. بنابراین بنظر می رسد درمان با این دو دارو در بیماران با ژنوتیپ II در پیشگیری از بیماری قلبی و عروقی موثرتر باشد.

واژه های کلیدی: آتورواستاتین، کلسترول، کلسترل استر ترانسفر پروتئین، پلی مورفیسم، لیپوپروتئین با دانسیته بالا، لوآستاتین.

مقدمه:

آترواسکلروز بیماری عضلات صاف شریان ها است که در نتیجه رسوب چربی و سایر ترکیبات در دیواره داخلی برخی شریان ها تشکیل می گردد (۱). این وضعیت سبب تشکیل پلاک، تغییر شکل عروق، انسداد حاد و مزمن، اختلال در جریان خون و کاهش اکسیژن رسانی به اندام هدف می گردد (۲).

آترواسکلروز بیماری عضلات صاف شریان ها است که در نتیجه رسوب چربی و سایر ترکیبات در دیواره داخلی برخی شریان ها تشکیل می گردد (۱). این وضعیت سبب تشکیل پلاک، تغییر شکل عروق، انسداد حاد و مزمن، اختلال در جریان خون و کاهش اکسیژن رسانی به اندام هدف می گردد (۲).

نمی دهند. به نظر می رسد مصرف و بازسازی HDL-C (turn over) نسبت به حالت ثابت آن در محافظت بر ضد آترواسکلروز بیشتر موثر می باشد (۴).

CETP (cholesterol ester transfer protein) پروتئین منتقل کننده استرهای کلسترول در پلاسما است که با انتقال کلسترول به لیوپروتئین های حاوی آپولیپوپروتئین B (ApoB) (apolipoprotein B) شانس برگشت کلسترول از طریق لیوپروتئین با دانسیته پایین کلسترول (LDL-C) به سلول های محیطی را بیشتر می کند و از طرفی با افزایش LDL-C باعث می شود که بخشی از کلسترول که توسط گیرنده LDL-C سلول های کبدی برداشته می شود بیشتر شود (۵). پس CETP می تواند نقش آتروژنیک یا آنتی آتروژنیک داشته باشد. انتقال استرهای کلسترول بین لیوپروتئین ها در پلاسما یک مرحله حیاتی در تنظیم کلسترول پلاسما است. قسمتی از این انتقال به عهده CETP است. CETP به عنوان پروتئین شماره ۱ انتقال دهنده لیپید (lipid transfer protein 1) نیز شناخته شده است (۵).

با مطالعات انجام شده توسط پروب های ویژه در سلول های هیبرید محل ژن CETP بر روی کروموزوم شماره 16q21 تشخیص داده شد این ژن دارای ۱۶ اگزون می باشد (۶). موتاسیون های بسیاری در ناحیه کد کننده و غیر کد کننده این ژن گزارش گردیده است که بر فعالیت CETP و غلظت HDL-C تاثیر دارند (۷).

پلی مورفیسم I405V نسبتاً معمول بوده و با جابجایی A با G در اگزون ۱۴ ژن CETP باعث تغییر کدون ایزولوسین به والین می شود این پلی مورفیسم باعث تغییر در ساختمان اولیه پروتئین می گردد. آلل ۷ شیوع کمتری داشته و فراوانی آن در اکثر جوامع کمتر از ۲۵ درصد می باشد (۸). ژنوتیپ ۷۷ با فعالیت کمتر CETP و افزایش HDL-C در پلاسما همراه است. توزیع فراوانی این آلل در نژادهای مختلف متفاوت است (۹).

مصرف استاتین ها با مهار فعالیت CETP همراه بوده و منجر به افزایش ۱۵-۵ درصد در سطح HDL-C می گردد (۱۰). همچنین مطالعات نشان داده آترواستاتین باعث کاهش کلسترول تام، تری گلیسرید، LDL-C و آپولیپوپروتئین B (ApoB) پلاسما می گردد. در حالی که تاثیر قابل توجهی بر روی سطح HDL-C پلاسما و سطح آپولیپوپروتئین A1 (ApoA1) نداشته است ولی باعث مهار فعالیت CETP شده است (۱۱).

تداخل درمان با استاتین منجر به این نتیجه شد که نتایج درمان با استاتین می تواند تحت تاثیر پلی مورفیسم های CETP و غلظت این پروتئین قرار گیرد (۱۲). هدف از این مطالعه بررسی اثر پلی مورفیسم I405V ژن CETP در پاسخ درمانی به استاتین ها می باشد. مشخص شدن این مطلب که وجود کدام پلی مورفیسم باعث افزایش بیشتر HDL-C در دوزهای متفاوت استاتین می شود، می تواند در هدایت بیماران و استعدادیابی بیماری های قلبی عروقی موثر باشد.

روش بررسی:

این مطالعه توصیفی - تحلیلی در سال ۱۳۸۸ در بیماران مراجعه کننده به کلینیک شماره ۲ دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد انجام شد. از افراد مراجعه کننده به متخصص قلب و عروق یا متخصص داخلی که سطح LDL-C بالاتر از ۱۲۰ میلی گرم در دسی لیتر داشته و به تشخیص پزشک معالج نیاز به درمان هایپرکلسترولمی با لواستاتین یا آتورواستاتین داشتند با روش آسان ۱۹۶ بیمار انتخاب شدند. افراد مورد مطالعه شامل ۱۰۶ نفر دریافت کنندگان لواستاتین و ۹۰ نفر دریافت کنندگان آتورواستاتین بودند. افراد با بیماری های دیابت کنترل نشده، بیماری های کبدی، کلیوی، هیپوتیروئیدیسم و افرادی که به عللی دارو مصرف می کنند از مطالعه خارج گردیدند.

در این مطالعه پس از تایید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد اطلاعات لازم در مورد تحقیق به کلیه افراد داوطلب داده شد و رضایت نامه کتبی به همراه پرسشنامه در هنگام نمونه گیری از بیماران دریافت گردید. در شروع مطالعه از همه بیماران به صورت ناشتا ۴ میلی لیتر خون لخته جهت انجام آزمایشات بیوشیمیایی و همچنین ۲ میلی لیتر خون با EDTA ۰/۵ مولار جهت انجام آزمایشات مولکولی گرفته شد. پس از پایان دوره درمان که ۴۵ روز بود مجدداً از کلیه بیماران ۴ میلی لیتر خون جهت انجام آزمایشات بیوشیمیایی گرفته شد. سرم نمونه های خون پس از مدت زمان لازم جدا شد و همراه با نمونه های خون مربوط به آزمایشات مولکولی در فریزر $^{\circ}\text{C} - 20$ تا انجام آزمایشات نگهداری گردید. کلیه آزمایشات بیوشیمیایی شامل گلوکز، تری گلیسرید و کلسترول تام به روش آنزیمی، HDL-C و LDL-C به روش مستقیم ایمنوبیوشیمی و ApoA1 و ApoB به روش ایمنونوتوریدومتريک تعیین مقدار گردیدند. همچنین کراتینین به روش ژافه، جهت حذف بیماران کلیوی از مطالعه انجام گردید. آزمایشات فوق با استفاده از کیت های شرکت پارس آزمون و استفاده از دستگاه اتوآنالیز (BT3000، فرانسه) انجام شد.

جهت انجام آزمایشات مولکولی DNA نمونه های خون با استفاده از روش فنل - کلروفرم استخراج گردید (۱۳) و سپس با استفاده از اسپکتروفتومتر (Unico 2100 USA) مقدار و کیفیت آن تخمین زده شد. پلی مورفیسم I405V ژن CETP با استفاده از روش PCR-RFLP با استفاده از دستگاه ترموسایکلر TECHNE (UK - TC-512) تعیین گردید.

در اگزون ۱۴ ژن CETP قطعه ۳۰۸ جفت بازی توسط پرایمرهای زیر تکثیر گردید (۱۴):

F: 5'GCAGAACAGTACTGGCCAAGCAGCG 3'
R: 5' GCGGTGATCATTGACTGCAGGAAGCTCTGT3'

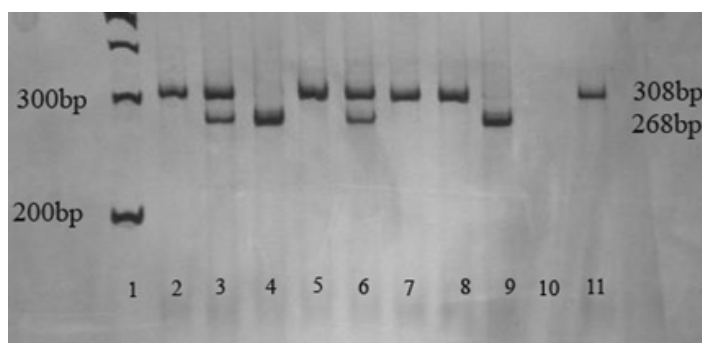
مواد مورد استفاده در هر واکنش PCR شامل: 0.5 μl از هر دو پرایمر جلو برنده و معکوس (10PM)، 2.5 μl MgCl₂ (50mM)، 2.5 μl از 10X Taq DNA buffer (10mM) Mix، 0.5 μl از 5U/ μl DNA Taq Polymerase و 1 μl از DNA (حدود 100 ng) که با آب مقطر دو بار تقطیر شده به حجم نهایی ۲۵ μl رسانده شد. شرایط دمایی ترموسایکلر پس از بهینه سازی شامل: ۳ دقیقه ۹۶ $^{\circ}\text{C}$ به مدت ۳۵ سیکل شامل ۹۵ $^{\circ}\text{C}$ به مدت ۳۰ ثانیه، ۶۰ $^{\circ}\text{C}$ به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ $^{\circ}\text{C}$ به مدت ۳۰ ثانیه و در نهایت طویل سازی نهایی ۷۲ $^{\circ}\text{C}$ به مدت ۶ دقیقه بود.

محصول PCR بدست آمده توسط ۵ واحد آنزیم Rsa I (Fermentase- Canada) به مدت یک شبانه روز در دمای ۳۷ درجه مورد هضم قرار گرفت. سپس محصول هضم شده بر روی ژل پلی اکریل آمید ۸ درصد (۲۹:۱) جهت وجود قطعاتی به طول ۲۶۸ و ۴۰ جفت باز مورد بررسی قرار گرفت. الکتروفورز با ولتاژ ۲۰۰ ولت به مدت یک ساعت انجام گردید و ژل بدست آمده با نیترا ت نقره رنگ آمیزی شد. از هر پلی مورفیسم یک نمونه جهت تایید تعیین توالی شدند.

کلیه آزمایشات در مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد انجام گردید. نتایج آزمایشات بیوشیمیایی قبل و بعد درمان در آلل های مختلف پلی مورفیسم با استفاده از نرم افزار SPSS 16 با بکارگیری آزمون آماری t زوجی بررسی گردید و در صورت نیاز به مقایسه در بین ژنوتیپ ها از آزمون ANOVA و جهت مشخص شدن ژنوتیپی که با بقیه اختلاف دارد از آزمون توکی استفاده شد.

یافته ها:

پس از انجام آزمایشات مولکولی، محصولات PCR حاصل از هضم آنزیمی، بر روی ژل پلی اکریل آمید بررسی گردیدند. وجود باندها در ناحیه ۳۰۸



تصویر شماره ۱: محصولات PCR RFLP پلی مورفیسم I405V بر روی ژل پلی آکریل آمید ۸٪
شماره ۱ مارکر، شماره‌های ۲، ۵، ۷ و ۸ ژنوتیپ II، شماره ۳ و ۶ ژنوتیپ IV، شماره ۴ و ۹ ژنوتیپ VV، شماره ۱۰ کنترل منفی (بدون DNA)، شماره ۱۱ کنترل بدون آنزیم (Un cut)، قطعه ۴۰ جفت بازی از ژل خارج شده و در تصویر دیده نمی‌شود.

جدول شماره ۱: ویژگی های دموگرافیک و بیوشیمیایی در کل افراد تحت مطالعه بین ژنوتیپ های پلی مورفیسم های مختلف I405V

ژنوتیپ	II (n=۸۱)	IV (n=۸۴)	VV (n=۳۱)	متغیر
سن (سال)	۵۱±۱۲/۱	۵۳±۱۰/۹	۵۷±۱۰/۷	
مردان (%)	۴۱	۴۳	۳۹	
سیگاری (%)	۲۵	۳۱	۱۹	
نمایه توده بدنی (mg/m ²)	۲۷±۳/۹	۲۶±۴/۲	۲۷±۳/۹	
قند ناشتا*	۱۰۱±۲۴	۹۵±۲۹	۹۳±۱۸	
کلسترول*	۲۲۵±۳۰/۴	۲۲۴±۴۲/۶	۲۳۱±۳۹/۹	
تری گلیسرید*	۱۹۶±۷۰/۲	۱۷۸±۵۹/۸	۲۰۲±۷۷/۴	
HDL-C*	۳۶±۱۰/۴	۳۹±۱۱/۶	۴۱±۹/۹	
LDL-C*	۱۴۱±۲۵/۳	۱۴۵±۳۰/۲	۱۴۷±۲۰/۷	
ApoA1*	۱۳۱±۲۳/۹	۱۲۵±۲۰/۴	۱۲۳±۲۰/۲	
ApoB*	۱۲۷±۳۵/۳	۱۲۴±۳۵/۵	۱۲۱±۱۸/۹	

۰/۰۵ < P در تمام متغیرهای بین ژنوتیپ ها *غلظت ها بر اساس mg/dl می باشد. HDL: لیوپروتئین با دانسیته بالای کلسترول، LDL-C: لیوپروتئین با دانسیته پایین کلسترول، ApoA1: آپولیپروتئین A1، ApoB: آپولیپروتئین B، I: اسید آمینه ایزولوسین V: اسید آمینه والین

وجود نداشت (جدول شماره ۱). در دو گروه از نظر سن، جنس و نمای توده بدنی اختلاف معنی داری مشاهده نشد. مصرف لواستاتین باعث کاهش غلظت کلسترول و افزایش HDL-C در ژنوتیپ VV شد (P<۰/۰۵). همچنین مصرف این دارو منجر به افزایش ApoA1 در ژنوتیپ های II و IV گردید (P<۰/۰۵). به

جفت بیانگر ژنوتیپ II، در ناحیه ۲۶۸ جفت بازی ژنوتیپ VV و در هر دو محل ۳۰۸ و ۲۶۸ جفت بازی ژنوتیپ IV می باشد (تصویر شماره ۱).
در کل افراد تحت مطالعه بین ژنوتیپ های پلی مورفیسم های مختلف با ویژگی های دموگرافیک و بیوشیمیایی افراد مورد بررسی اختلاف معنی داری

واسطه ماهیت عملکردی دارو در تمام ژنوتیپ‌های پلی مورفسم I405V CETP کاهش غلظت در کلسترول تام، LDL-C و ApoB دیده شد. میزان تری گلیسرید نیز کاهش مختصری نشان داد که این کاهش در ژنوتیپ II واضح تر بود. به دنبال مصرف آتورواستاتین در کلیه ژنوتیپ‌ها افزایش غلظت HDL-C در هر سه ژنوتیپ و افزایش ApoA1 به ویژه در ژنوتیپ II نسبت به ژنوتیپ IV و VV مشاهده گردید (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۲: نتایج پروفایل لیپیدی افراد تحت مطالعه برحسب ژنوتیپ های پلی مورفسم I405V قبل و بعد از دریافت دارو

متغیر	ژنوتایپ	گروه					
		لوآستاتین		آتورواستاتین		درصد تغییر (%)	
		II (n=44)	IV (n=45)	VV (n=17)	II (n=37)	IV (n=39)	VV (n=14)
کلسترول	قبل	219±27/5	235±29/4	239±40/9	229±27/6	251±30/4	246±42/1
	بعد	189±28/6	191±31/5	181±41/7	174±25/6	198±31/8	181±41/6
	درصد تغییر (%)	-13/7	-18/7	-24/2*	-22/8	-21/1	-26/4
تری گلیسرید	قبل	197±68/9	189±60/7	199±69/5	200±72/9	189±64/7	197±68/6
	بعد	189±70/8	181±63/6	189±68/5	186±73/8	182±60/1	191±71/5
	درصد تغییر (%)	-4/1	-4/2	-4/9	-7/1	-3/7	-3/1
HDL-C	قبل	36±8/9	38±10/8	39±8/9	37±8/6	40±10/6	41±8/7
	بعد	39±10/6	41±9/5	45±10/2	40±9/6	44±10/5	46±10/9
	درصد تغییر (%)	+8/3	+7/9	+15/2*	+8/1	+10/1	+12/2
LDL-C	قبل	145±28/5	144±28/9	149±26/6	148±26/5	154±29/9	147±29/6
	بعد	105±32/6	99±28/9	94±22/5	96±33/6	92±27/8	90±19/5
	درصد تغییر (%)	-27/5	-31/2	-36/9	-35/1	-40/2	-38/7
ApoA1	قبل	123±24/6	123±21/5	120±22/8	123±23/3	121±20/2	120±21/3
	بعد	137±31/5	128±29/4	123±22/3	155±30/3	140±19/9	138±20/9
	درصد تغییر (%)	+11/4*	+12/2*	+2/5	+26/1**	+15/7	+15/1
ApoB	قبل	128±31/5	125±28/6	123±25/5	135±29/5	119±26/6	130±22/5
	بعد	100±28/6	96±25/4	98±21/9	95±25/6	89±22/4	92±21/2
	درصد تغییر (%)	-21/8	-23/2	-20/3	-29/6	-25/2	-29/2

* $P < 0.05$ ، ** $P < 0.01$ در آزمون توکی بین سه ژنوتیپ. در همه متغیرهای غلظت ها بر اساس میلی گرم به دسی لیتر

(mg/dl) می باشد. HDL لیپوپروتئین با دانسیته بالا، LDL لیپوپروتئین با دانسیته پایین، ApoA1 آپولیپوپروتئین

آپولیپوپروتئین B، اسید آمینه ایزولوسین، V: اسید آمینه والین

بحث:

به نظر می‌رسد تعیین نقش پلی مورفیسم‌های CETP در پیش‌بینی حساسیت به بیماری و پاسخ‌های دارویی حائز اهمیت باشد.

در مطالعه حاضر غلظت پروفایل لیپیدی قبل و همچنین بعد از دریافت لواستاتین یا آتورواستاتین در بین ژنوتیپ‌های مختلف I405V ژن CETP بررسی گردید. در کلیه افراد مورد مطالعه در تمام ژنوتیپ‌ها کاهش کلسترول تام دیده شد که ناشی از ماهیت عملکردی داروها یعنی مهار آنزیم کنترل‌کننده مسیر تولید کلسترول داخلی (HMG CoA Reductase) توسط این داروها است. اما به دنبال مصرف لواستاتین در ژنوتیپ VV از پلی مورفیسم I405V کاهش بیشتری در کلسترول تام دیده شد و به نظر می‌رسد در ژنوتیپ‌هایی از CETP که فعالیت CETP به دلیل آلل موجود کاهش یافته (آلل V) پاسخ بهتری در مورد کاهش کلسترول به درمان با لواستاتین نشان داده شده است.

یک احتمال برای کاهش بیشتر کلسترول در این ژنوتیپ می‌تواند این مسئله باشد که کلسترول در این ژنوتیپ بیشتر در HDL-C باقی مانده است (به دلیل کم بودن فعالیت CETP) و این HDL-C‌های غنی از کلسترول از مسیر SR-B1 scavenger receptor (SR-B1) در کبد از پلاسما حذف شده‌اند. مسیر SR-B1 جزء گیرنده‌های مربوط به HDL است که در انتقال معکوس کلسترول باعث حذف ذرات HDL-C می‌گردد (۱۶، ۱۵). LDL-C کلسترول در بین ژنوتیپ‌ها چه قبل از دریافت لواستاتین و آتورواستاتین و چه بعد از دریافت آنها اختلاف معنی‌داری را نشان نداده است. نبود اختلاف در ژنوتیپ‌ها به دنبال درمان در مورد LDL-C ناشی از همان ماهیت مهار بر آنزیم تولید کلسترول است که مستقل از CETP می‌باشد و در واقع کاهش در تمام ژنوتیپ‌ها در میزان LDL-C تقریباً به یک میزان صورت گرفته است و این نشان می‌دهد که تاثیر دارو در مهار تولید کلسترول مستقل از CETP

عمل می‌نماید. تغییرات ApoB هم به تبعیت از کاهش LDL-C در هر سه ژنوتیپ به یک نسبت بوده است و تحت تاثیر تغییر فعالیت CETP در اثر تغییر ژنوتیپ‌ها قرار نگرفته است. کاهش ذرات حاوی تری گلیسرید از جمله LDL-C توسط آتورواستاتین و یا لواستاتین منجر به کاهش میزان تری گلیسرید در افراد مورد مطالعه گردیده است. در ژنوتیپ II از پلی مورفیسم I405V کاهش واضح تری در میزان تری گلیسرید نسبت به بقیه ژنوتیپ‌ها دیده می‌شود. به نظر می‌رسد در افراد دارای این ژنوتیپ به دلیل فعالیت پایین‌تر CETP و کاهش انتقال تری گلیسرید از ذرات حاوی تری گلیسرید به HDL-C ذرات درشت حاوی تری گلیسرید تولید می‌گردد که بیشتر تحت تاثیر هپاتیک لیپاز قرار می‌گیرند (۱۷) و بنابراین سریع تر از خون حذف می‌شوند.

HDL-C در ژنوتیپ‌های مختلف از ۷/۹ تا ۱۵/۲ درصد در مصرف لواستاتین و از ۸/۱ تا ۱۲/۲ درصد در مورد آتورواستاتین افزایش داشته است که بیشترین درصد افزایش در مورد هر دو دارو مربوط به ژنوتیپ VV می‌باشد که بیشتر تحت تاثیر استاتین قرار گرفته است. به نظر می‌رسد پایین‌تر بودن ذاتی CETP ناشی از پلی مورفیسم‌هایی است که باعث کاهش غلظت یا فعالیت CETP می‌شوند. وجود آلل V در ۴۰۵ V باعث حساسیت بیشتر در فرد به استاتین می‌گردد و لذا افزایش HDL-C ناشی از مهار بیشتر CETP در این ژنوتیپ‌ها واضح‌تر بوده است.

در یک مطالعه وجود ژنوتیپ خاصی از پلی مورفیسم Taq1B2 با سطح بالاتر CETP در خون همراه بوده است که منجر به کاهش HDL-C در پلاسما شده است (۱۸). این ارتباط تحت تاثیر درمان با پارواستاتین قرار گرفته است. به نظر می‌رسد پارواستاتین در ژنوتیپ‌های B1B1 نسبت به B2B2 تاثیر کمتری داشته است (۱۸) که نتایج ما با نتایج این مطالعه تاحدی

همسو می‌باشد.

عروقی خواهد داشت.

همینطور در مطالعات دیگر وجود ژنوتیپ B1B1 در CETP با غلظت کمتر LDL-C و ریسک بالاتر بیماری‌های قلبی و عروقی و پاسخ بیشتری گلیسرید به کاهش در مقابل ژمفیروزیل بوده است (۱۹). یک دلیل واضح افزایش HDL-C ناشی از استاتین‌ها که در این مطالعه و مطالعات مشابه دیده شده کاهش انتقال کلسترول استر از ذرات HDL-C به ذرات حاوی ApoB100 نظیر LDL-C به دلیل کاهش تولید این ذرات در اثر مهار HMG CoA Reductase به واسطه دارو است. یعنی علاوه بر تحت تاثیر قرار گرفتن غلظت و فعالیت CETP ناشی از مصرف استاتین‌ها دلیل دیگر افزایش HDL-C، کاهش سوبسترای گیرنده کلسترول استر جهت انتقال معکوس کلسترول است.

در این مطالعه غلظت ApoA1 تحت تاثیر هر دو دارو افزایش یافته است. به طوری که در گروه لواستاتین تا ۱۲/۱ درصد و در گروه آتورواستاتین تا ۲۶/۱ درصد افزایش غلظت در ApoA1 دیده شد.

بیشترین تغییر در اثر دارو بر غلظت ApoA1 در ژنوتیپ II از پلی مورفیسم I405V بوده است. این بدین معنی است که در ژنوتیپ‌هایی که غلظت HDL-C کمتر تحت تاثیر دارو قرار گرفته غلظت ApoA1 بیشتر افزایش یافته که حاکی از تولید ذرات HDL-C با پروتئین بیشتر بوده است و باید توجه نمود که عملکرد اصلی ذرات HDL-C بیشتر به واسطه بخش پروتئینی این ذرات است. آتورواستاتین به دلیل افزایش موثرتر در غلظت ApoA1 نسبت به لواستاتین باعث تولید ذرات HDL با درصد پروتئین بیشتر می‌گردد و احتمالاً نقش موثرتری در عملکرد HDL در بیماری‌های قلبی و

نتیجه‌گیری:

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد تغییرات HDL-C در ژنوتیپ‌های IV، VII و II از پلی مورفیسم I405V یکسان نبوده و در ژنوتیپ‌هایی که غلظت CETP یا فعالیت آن کمتر بوده افزایش HDL-C به دنبال مصرف دارو واضح‌تر می‌باشد. ولی علی‌رغم این افزایش، به دلیل اینکه در ژنوتیپ‌های مذکور ApoA1 به نسبت کمتر افزایش یافته منجر به تولید ذرات HDL با نسبت لیپید به پروتئین بیشتر در این ژنوتیپ شده است که این مسئله در نهایت در ژنوتیپ‌هایی که افزایش غلظت CETP بیشتر بوده انتقال معکوس کلسترول کارایی کمتری خواهد داشت. پس به نظر می‌رسد در افراد با ژنوتیپ II از پلی مورفیسم I405V ذرات HDL تولید شده به دلیل بالاتر بودن ApoA1 کارایی بیشتری در انتقال معکوس کلسترول خواهند داشت. در نتیجه مصرف استاتین‌ها با هدف افزایش HDL در این ژنوتیپ‌ها احتمالاً نتایج سودمندتری به دنبال خواهد داشت. پیشنهاد می‌گردد بررسی بیشتری در این زمینه بر روی دیگر پلی مورفیسم‌های ژن CETP انجام گیرد.

تشکر و قدردانی:

بدینوسیله از کلیه کارکنان محترم مرکز تحقیقات سلولی، مولکولی شهرکرد و همچنین پرسنل محترم معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد کمال تشکر و قدردانی می‌گردد. هزینه این طرح توسط معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد با شماره گرانت ۵۱۱ تامین گردیده است.

منابع:

1. Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, Insull W Jr, et al. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the committee on vascular lesions of the council on arteriosclerosis. Circulation. 1995 Sep; 92(5): 1355-74.

2. Strydom HC, Chandler B, Glagov S, Guyton JR, Insull W JR, ME Rosenfeld ME, et al. A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis: a report from the committee on vascular lesions of the council on arteriosclerosis. *Circulation*. 1994; 89(5): 2462-78.
3. Barter P, Kastelein J, Nunn A, Hobbs R. High density lipoproteins (HDLs) and atherosclerosis: the unanswered questions. *Atherosclerosis*. 2003; 168(2): 195-211.
4. Zhang Y, Zanotti I, Reilly MP, Glick JM, Rothblat GH, Rader DJ. Overexpression of apolipoprotein A-I promotes reverse transport of cholesterol from macrophages to feces in vivo. *Circulation*. 2003; 108(6): 661-3.
5. Day JR, Albers JJ, Lofton-Day CE, Gilbert TL, Ching AF, Grant FJ, et al. Complete cDNA encoding human phospholipid transfer protein from human endothelial cells. *J Biol Chem*. 1994; 269(12): 9388-91.
6. Lusis AJ, Zollman S, Sparkes RS, Klisak I, Mohandas T, Drayna D, et al. Assignment of the human gene for cholesterol ester transfer protein to chromosome 16q12-16q21. *Genomics*. 1987; 1(3): 232-5.
7. Blankenberg S, Rupprecht HJ, Bickel C, Jiang XC, Poirier O, Lackner KJ, et al. Common genetic variation of the cholesterol ester transfer protein gene strongly predicts future cardiovascular death in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 2003; 41(11): 1983-9.
8. Boekholdt SM, Sacks FM, Jukema JW, Shepherd J, Freeman DJ, McMahon AD, et al. Cholesterol ester transfer protein TaqIB variant, high-density lipoprotein cholesterol levels, cardiovascular risk, and efficacy of pravastatin treatment: individual patient meta-analysis of 13, 677 subjects. *Circulation*. 2005; 111(3): 278-87.
9. Okumura K, Matsui H, Kamiya H, Saburi Y, Hayashi K, Hayakawa T. Differential effect of two common polymorphisms in the cholesteryl ester transfer protein gene on low-density lipoprotein particle size. *Atherosclerosis*. 2002; 161(2): 425-31.
10. Tavintharan S, Lim SC, Sum CF. Patients with low levels of high-density lipoprotein cholesterol: to treat or not to treat? *Singapore Med J*. 2005 Oct; 46(10): 519-28.
11. Kassai A, Illyes L, Mirdamadi HZ, Seres I, Kalmar T, Audikovsky M, et al. The effect of atorvastatin therapy on lecithin: cholesterol acyltransferase, cholesterol ester transfer protein and the antioxidant paraoxonase. *Clin Biochem*. 2007; 40(1-2): 1-5.
12. Kuivenhoven JA, Jukema JW, Zwinderman AH, de Knijff P, McPherson R, Bruschke AV, et al. The role of a common variant of the cholesterol ester transfer protein gene in the progression of coronary atherosclerosis. The regression growth evaluation statin study group. *N Engl J Med*. 1998; 338(2): 86-93.
13. Dale JW, Schantz MV. Purification and separation of nucleic acid. In: Michael L, Silver L. *From Genes to genomes*. Guilford: John Wiley and Sons; 2002. P: 31-3.
14. Padmaja N, Ravindra Kumar M, Soya SS, Adithan C. Common variants of Cholesterol ester transfer protein gene and their association with lipid parameters in healthy volunteers of Tamilian population. *Clin Chim Acta*. 2007; 375(1-2): 140-6.
15. Brewer HB Jr, Remaley AT, Neufeld EB, Basso F, Joyce C. Regulation of plasma high-density lipoprotein levels by the ABCA1 transporter and the emerging role of high-density lipoprotein in the treatment of cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004; 24(10): 1755-60.
16. Wang N, Lan D, Chen W, Matsuura F, Tall AR. ATP-binding cassette transporters G1 and G4 mediate cellular cholesterol efflux to high-density lipoproteins. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004; 101(26): 9774-9.
17. Borggreve SE, Hillege HL, Wolffenbuttel BH, de Jong PE, Bakker SJ, van der Steege G, et al. The effect of cholesteryl ester transfer protein -629C->A promoter polymorphism on high-

density lipoprotein cholesterol is dependent on serum triglycerides. J Clin Endocrinol Metab. 2005; 90(7): 4198-204.

18. Regieli JJ, Jukema JW, Grobbee DE, Kastelein JJ, Kuivenhoven JA, Zwinderman AH, et al. CETP genotype predicts increased mortality in statin-treated men with proven cardiovascular disease: an adverse pharmacogenetic interaction. Eur Heart J. 2008; 29(22): 2792-9.

19. Okamoto H, Yonemori F, Wakitani K, Minowa T, Maeda K, Shinkai H. A cholesterol ester transfer protein inhibitor attenuates atherosclerosis in rabbits. Nature. 2000; 406(6792): 203-7.

Study of I405V polymorphism of cholesterol ester transfer protein gene in efficacy of statins on plasma level of high density lipoprotein cholesterol

Ghatreh-Samani K (PhD)¹, Farrokhi E (PhD student)*², Hashemzadeh-Chaleshtori M (PhD)², Nikookar M (MSc)³, Noormohammadian Z (BSc)³

¹Clinical Biochemistry Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran; ²Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran; ³Biochemistry Dept. Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran.

Received: 18/Apr/2011 Revised: 11/Jul/2011

Accepted: 7/Dec/2011

Background and aims: Cholesterol ester transfer protein (CETP) plays a pivotal role in high density lipoprotein (HDL) metabolism and reverse cholesterol transport (RCT) pathway. CETP gene variants such as I405V that affect HDL cholesterol directly modulate CETP gene transcriptional activity. This study aims to determine influence of I405V polymorphism of CETP in statin effects with regard to plasma HDL cholesterol levels.

Methods: In this descriptive analytical study, 196 adult patients with LDL-C more than 120 mg/dL were divided into two groups based on the lovastatin and atorvastatin using. There was no significant difference in demographic characteristics between two groups. Lipid profile was measured in all subjects before and after treatment and I405V polymorphism of CETP promoter was studied using polymerase chain reaction/restriction fragment length polymorphism method (PCR-RFLP). Data were compared using paired t-test and ANOVA.

Results: Cholesterol was decreased and HDL was increased in VV genotype more than other genotypes by lovastatin and atorvastatin ($P < 0.05$) but ApoA1 was increased in II genotype. ApoA1 also was increased in IV by atorvastatin despite of lower HDL.

Conclusion: Lovastatin and specially atorvastatin increased ApoA1 in HDL particles in II genotype more than other genotypes. Therefore, treatment with lovastatin and atorvastatin is more effective in patients with II genotype for preventing of CAD.

Keywords: Atorvastatin, Cholesterol ester transfer protein gene (CETP), Cholesterol, Polymorphism, High density lipoprotein (HDL-C), Lovastatin.

Cite this article as: Ghatreh - Samani K, Farrokhi E, Hashemzadeh-Chaleshtori M, Nikookar M, Noormohammadian Z. [Study of I405V polymorphism of cholesterol ester transfer protein gene in efficacy of statins on plasma level of high density lipoprotein cholesterol. J Shahrekord Univ Med Sci. 2012 May, June; 14(2): 1-10.]Persian

*Corresponding author:

Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Rahmatieh, Shahrekord, I.R. Iran. Tel.: 00983813346692, E-mail: e_Farrokhi_k@yahoo.com